几种驱避化合物对白纹伊蚊寄主搜寻能力的影响

郝蕙玲[1]，杜家纬[2]

（1.海军医学研究所，上海 200433；2.中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所，上海 200032）

摘要：研究了白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 在含不同浓度的驱避化合物的空间内停留不同时间后，对其寄主搜寻能力的影响。结果显示：在密闭空间中，分别以 0.013 ~ 0.500 μg/cm^3 浓度的柠檬醛、丁香酚、芳樟醇、香叶醇、茴香醛处理白纹伊蚊 24 ~ 96 h 后，试蚊均出现不同程度的定向寄主抑制，其中以茴香醛及香叶醇抑制效果最佳，但香茅醛各处理组试蚊均未受到影响。白纹伊蚊搜寻定向寄主能力受到抑制的个体，在实验室正常饲养后，可逐渐恢复；但茴香醛 0.250 μg/cm^3 处理试虫 96 h 后，一直未能恢复正常的吸血行为。研究结果提示，茴香醛与香叶醇作为优良的空间驱避剂，在白纹伊蚊防控技术领域可发挥重要作用。

关键词：白纹伊蚊；空间驱避剂；寄主搜寻行为；蚊虫防治

中图分类号：Q969.9 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2008)11-1220-05

Effects of several potential spatial repellents on the host-seeking behavior of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera：Culicidae)

HAO Hui-Ling[1]，DU Jia-Wei[2] (1. Naval Medical Research Institute，Shanghai 200433，China；2. Institute of Plant Physiology and Ecology，Shanghai Institutes for Biological Sciences，Chinese Academy of Sciences，Shanghai 200032，China)

Abstract: Host-seeking behaviors of *Aedes albopictus* after treatments with spatial repellents at a certain concentration for given time were studied. The results indicated that mosquitoes after treatments with citral，eugenol，linalool，geraniol，anisaldehyde at concentrations of 0.013 - 0.500 μg/cm^3 for 24 - 96 h，respectively，all showed different degrees of reduction in host seeking ability，of which geraniol and anisaldehyde were more effective. But citronellal was ineffective in reducing the host seeking ability of *Aedes albopictus* in all the test levels. Mosquitoes which had lost the host seeking ability after above treatments with geraniol，citral，eugenol，linalool and anisaldehyde were able to recover to the normal ability when fed the normal 6% syrup diet for some time，but the mosquitoes after a treatment with 0.250 μg/cm^3 of anisaldehyde for 96 h showed a long continually inhibitory response for host seeking ability. These initial laboratory results clearly showed that anisealdehyde and geraniol could be promising spatial repellents against *Ae*. *albopictus* and may play a major role in the new repellent technology.

Key words: *Aedes albopictus*；spatial repellent；host-seeking behavior；mosquito control

传统的蚊虫驱避剂是直接涂抹在皮肤上，在近皮肤一定距离形成驱避性化合物的气味层，抑制蚊虫对宿主气味的识别能力，从而阻断其定向吸血行为的一种方式。避蚊胺(Deet)作为优秀的驱避剂，自 1954 年报道具驱蚊活性以来，一直作为最有效的驱避剂被广泛应用，然而，近年来有关其毒性及安全性方面的研究报道引起人们的极大重视(Miller, 1982；Sinha *et al*., 2004)。另一方面，在蚊虫防控技术领域，因化学杀虫剂的长期、大量使用，导致了严重的抗药性及环境污染问题也备受人们的关注。随着人们对自身健康与环保意识的增强，寻求更为安全、有效的途径来防止蚊虫叮咬，已成为媒介生物学专家的共同追求与愿望。

空间驱避剂是一些具挥发性的驱避性化合物，不直接用在皮肤上，而是在一定的空间内形成气味屏障，使骚扰、吸血性医学昆虫产生忌避反应，达到

作者简介：郝蕙玲，女，1971 年生，博士，副研究员，主要从事媒介生物防治研究，E-mail：haohuiling@hotmail.com

收稿日期 Received：2008-06-13；接收日期 Accepted：2008-09-22

防护的目的。多年来对空间驱避剂的研究应用主要是以驱避性化合物处理衣领、袖口、裤口等部位，在人体暴露部分的周围形成保护屏障来防止叮咬的，在以往的文献报道中，一些胺类物质，如二胺类化合物虽有较好的空间驱避效果，但由于臭味和刺激性等原因而失去实用价值，空间驱避剂也一直没有获得实质性的进展。

近年来，利用植物挥发性驱避物在自然环境中形成空间驱避带来防控蚊虫的研究见于一些文献资料。Kline 等（2003）报道芳樟醇及二氢芳樟醇挥发物在实验条件下可降低蚊虫刺叮率达 71%之多；Dogan 和 Rossignol（1999）对包括香叶醇、香茅醇、柠檬烯在内的 14 种化合物和植物精油进行筛选，认为香叶醇和 dimethyl cyclormol 具有开发空间驱避剂的研究价值；Ulirich 等（2005）报道，荆芥内酯在实验条件下可降低蚊虫对人休的攻击率达 72.6%，是一种良好的空间驱避剂。

目前，空间驱避剂已进入实用化阶段，如市场上驱蚊香草的出现，这种植物是把香茅醛的基因转到了非洲天竺葵上，利用天竺葵叶面蒸腾功能极强的特点，在自然条件下，将驱蚊物质香茅醛释放出来，从而达到了驱蚊的效果。作为蚊虫防治全新的理念与措施，其实用性、有效性以及可能由此引发的生态学问题等也是人们关心的重要问题。

人们在研究昆虫化学感觉细胞对非挥发性物质的电生理时发现，由肌醇或蔗糖诱发的粘虫 *Mythimnsa eparata* 下颚瘤状体栓锥感器发放的电脉冲，可因与川楝素溶液接触而受到抑制，低浓度时经冲洗或过一定时间后可自行恢复，但进一步提高川楝素浓度可使感器的反应完全或不可逆地丧失（施玉梁等，1986；罗林儿等，1989）。那么对于可感受挥发性驱避物的嗅觉化感器，在接触其有效作用物后会发生怎样的生理反应？对蚊虫的行为生态学特别是定向吸血行为会产生怎样的影响？目前尚无相关的电生理或行为学方面的研究报道。回答这一问题，对发展这类无公害空间驱避剂产业无疑具一定的前瞻性指导意义，同时也可从这个切入点来研究、探讨驱避剂的作用机理。

本研究是在前期空间驱避剂筛选的基础上开展的（内部资料），实验所选用的有效空间驱避化合物，为参照 Posey 等（1998）的风洞装置系统测试后，优选获得。

1　材料与方法

1.1　试虫

试验采用白纹伊蚊 *Aedes albopictus*（Skuse）上海株系，已在实验室训养多年。饲养温度 28±1℃，湿度 70%±5%RH，光暗比 14:10（L:D），幼虫饲以小白鼠 *Mus musculus* 饲料，羽化成虫供以 6%葡萄糖水溶液，试验选用 5～8 d 未吸血雌虫。试蚊每组 10 头，放置在 30 cm×30 cm×30 cm 的蚊笼内供以 25～30 g 小白鼠一只，在 8 min 观测时间内可成功搜寻、定向寄主的选用于本试验。

1.2　试剂

芳樟醇 99%，香叶醇 96%，香茅醛 92%及柠檬醛 97%，由上海爱普香料有限公司提供；丁香酚 99%，茴香醛 99% 及甲醇 99.5% 购自上海化学试剂有限公司。

1.3　方法

1.3.1　空间浓度确定：根据化合物不同的比重，以及在上述实验条件下密闭 24 h 的挥发量来校正各化合物的实际用量。整个试验以甲醇为溶剂。

1.3.2　空间驱避剂对白纹伊蚊感受、定向寄主能力的影响：试验时将一定量的待测驱避物滴于面积 1.5 cm×3 cm 的滤纸上，悬挂在一容积为 17 L 的真空干燥器中央，自然挥发 24 h 后取出滤纸，在严格的实验条件下，挥发的化合物将在此密闭容器内达到动态平衡，形成一定的空间浓度。试蚊养在 10 cm H×2 cm Dia. 的尼龙网管内，每管 10 头，供以 6%葡萄糖液。试蚊在此容器内持续密闭 24，48，72，96 h 后从容器中取出，在自然条件下恢复 15 min 后，如 1.1 所述方法观察其搜寻、定向寄主的能力，操作中死亡试虫遂退出本实验。化合物对白纹伊蚊感受、定向寄主能力的抑制作用，以抑制率（inhibition rate）（%）来表示，处理试蚊未能感知寄主气味并成功飞行停落到寄主体表（激活 activation）或试蚊虽可准确停落在宿主上但喙未刺入皮肤（定位 orientation）者均判定为受到抑制，也即以蚊虫是否发挥传媒作用为划分界定标准。同时观察记录各阶段蚊虫死亡率。以甲醇处理为空白对照组。

1.3.3　白纹伊蚊受空间驱避剂抑制后其感受、定向寄主能力的恢复：上述处理试虫，界定为受抑制的个体放置于蚊笼内正常饲养，之后每 24 h 重复观察其定向吸血行为，试蚊可成功定向寄主并刺入喙者认为已恢复寄主定向能力。

实验温度 25±1℃；相对湿度 70%±5%；光照强度4 500 lx。试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 空间驱避剂对白纹伊蚊感受、定向寄主能力的影响及致死作用

结果显示(图 1),白纹伊蚊在芳樟醇、香叶醇、柠檬醛、丁香酚及茴香醛 0.013～0.500 μg/cm^3 浓度的空间密闭一定时间后,其感受、定向寄主能力受到不同程度的抑制,而香茅醛处理组实验蚊虫未受到影响,在 0.500 μg/cm^3 较高浓度下密闭 96 h 后,仍可成功定向寄主。另外在甲醇空白对照组,试蚊在 24～96 h 同等密闭处理后,成功定向寄主率为 100%。

在有效抑制化合物中,茴香醛与香叶醇抑制效果较好,茴香醛 0.500 μg/cm^3/48 h 处理组、0.100～0.500 μg/cm^3/72 h 处理组和 0.100～0.250 μg/cm^3/96 h 处理组,香叶醇 0.500 μg/cm^3/24 h 处理组和 0.250 μg/cm^3/48 h 处理组均达到 100% 的抑制效果。丁香酚对白纹伊蚊的抑制作用最弱,在 0.500 μg/cm^3/48 h 处理组达到最大抑制率只 65.5%。芳樟醇在低浓度时表现为较好的抑制效果,以 0.013 μg/cm^3 处理 24 h,即可达到 23.2% 的抑制率,但在高浓度时最大抑制率也只有 76.3%(0.250 μg/cm^3/72 h)。

试验结果表明,驱避化合物对试蚊感受、定向寄主的抑制率随浓度增加、时间延长而上升。

同时试验结果显示,在该密闭试验系统中,试蚊对不同驱避化合物的耐受性不同,总的来说,随处理时间延长,浓度升高,死亡率上升。芳樟醇与柠檬醛 0.500 μg/cm^3/24 h 处理组试虫全部死亡;柠檬醛 0.250 μg/cm^3/72 h 和 0.100 μg/cm^3/96 h 处理组 100% 死亡;香叶醇 0.500 μg/cm^3/48 h 和 0.100 μg/cm^3/72 h,丁香酚 0.250 μg/cm^3/72 h 处理组均 100% 死亡;茴香醛对蚊虫的影响最小,100% 死亡出现在 0.500 μg/cm^3/96 h 处理组。

2.2 白纹伊蚊感受、定向寄主能力恢复的研究

从图 2 可见,白纹伊蚊搜寻定向寄主能力受到抑制的个体,在实验室正常饲养后,其定向寄主能力的恢复情况表现不一,抑制率较高的茴香醛表现出较好的持续抑制效果:0.250 μg/cm^3/96 h 处理组试虫,在本次研究中一直未能恢复正常的吸血行为。其他化合物抑制持续时间分别为:香叶醇 96 h,芳樟

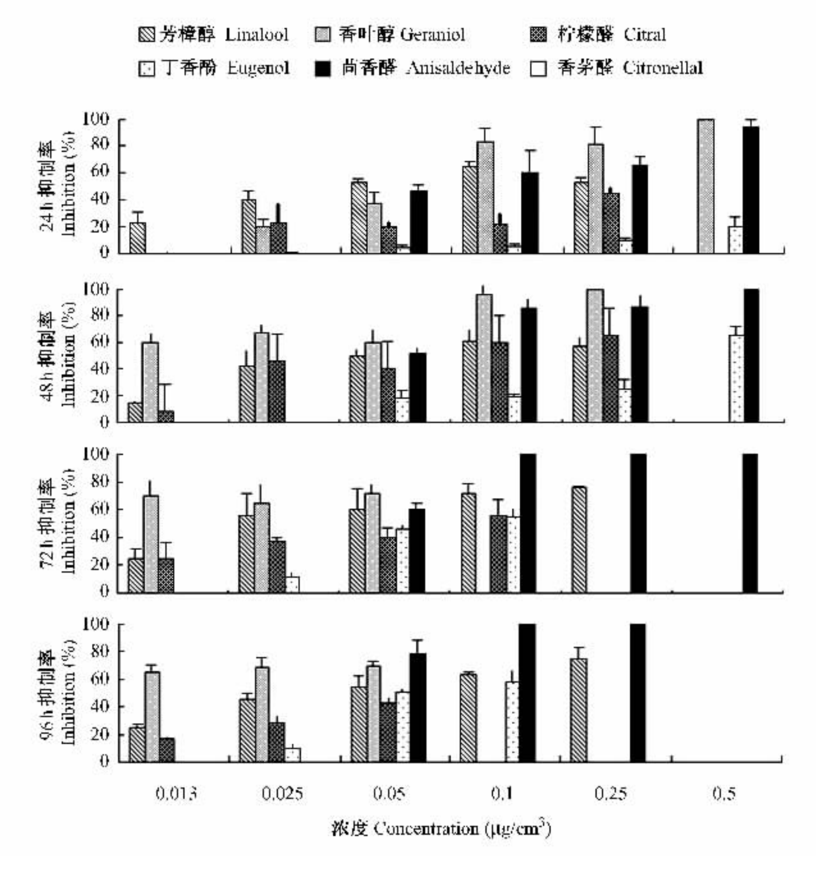


图 1 不同空间驱避化合物及其浓度对白纹伊蚊感受、定向寄主能力的抑制作用

Fig. 1 Inhibition (%) of sensing and host seeking ability of *Aedes albopictus* treated with different spatial repellents at different concentrations

醇与柠檬醛 72 h，丁香酚 48 h 已完全恢复。

在本研究中也发现，各种驱避化合物在蚊虫感受、定向寄主能力的抑制持效与抑制强度呈正相关，如抑制效果较好的芳樟醇 0.013 μg/cm^3 的低剂量即可引起 72 h 的持续抑制，而抑制效果较差的丁香酚在 0.250 μg/cm^3 以下剂量，试虫 24 h 内就 100% 恢复正常；抑制效果较好的茴香醛与香叶醇，其抑制持续时间也较长。从试验结果来看，所有试验化合物，在较高剂量及较长时间处理下，抑制持续时间较长。

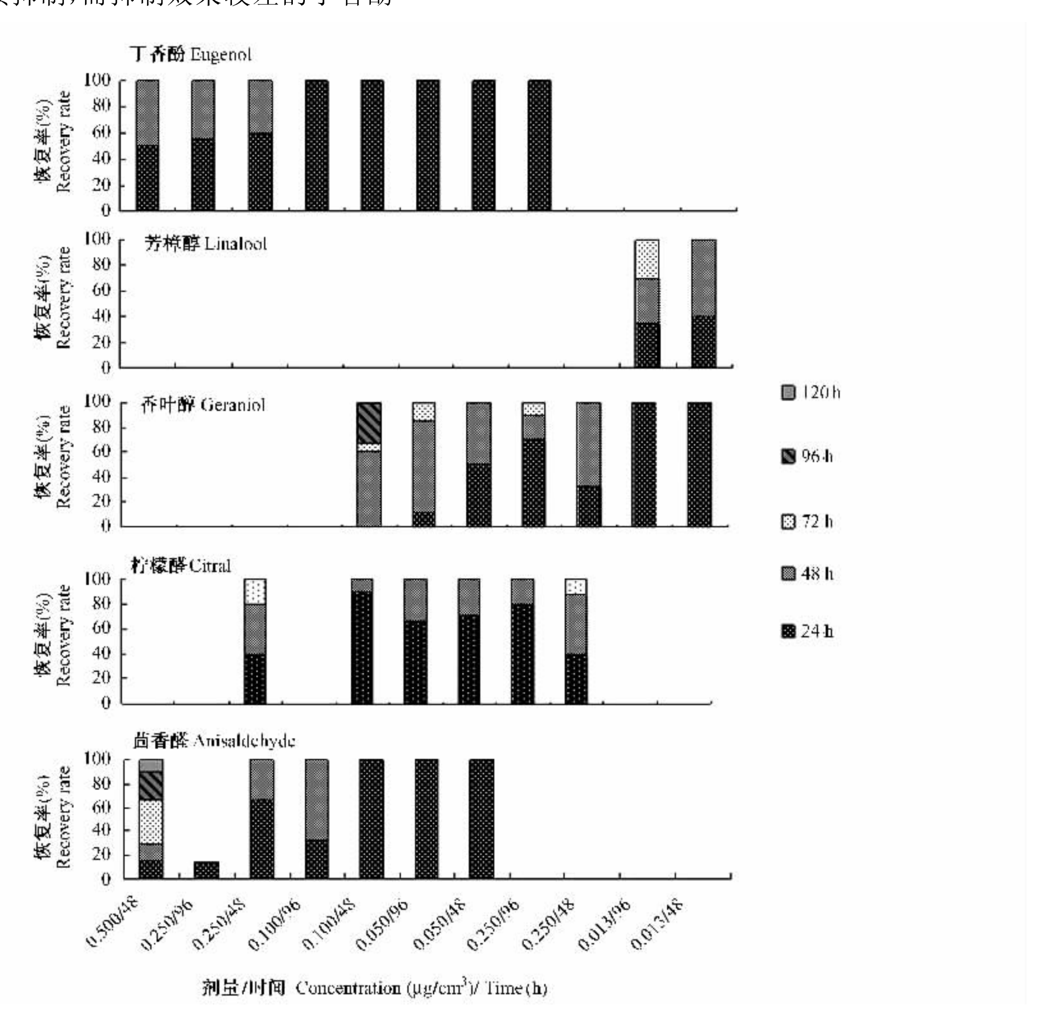


图 2　不同空间驱避化合物不同浓度和处理时间下白纹伊蚊累计寄主定向恢复率

Fig. 2　Accumulated recovery rate (%) of host seeking ability of *Aedes albopictus* treated with different spatial repellents at different concentrations and time

3　讨论

本研究结果表明，以柠檬醛、丁香酚、芳樟醇、香叶醇、茴香醛处理白纹伊蚊后，均表现出不同程度的嗅觉抑制效果，其中以茴香醛及香叶醇抑制效果明显，其次是芳樟醇，柠檬醛，丁香酚最差，而香茅醛未显示出定向抑制作用。蚊虫接触这些气味抑制剂后，其固有的吸血行为均有不同程度的抑制。表现为试蚊对寄主气味敏感度下降，不能成功找到寄主；或停落在寄主体表后用喙反复探寻，找不到血源。

从本研究结果来看，化合物对蚊虫正常感受寄主气味能力的抑制，可能是由于这类物质改变了气味结合蛋白或气味受体的功能或影响了其活性所致(Fox *et al*.，2001；Meijerink *et al*.，2001)。而部分试蚊虽可成功搜寻寄主但不能找到血源，也即定向抑制的现象，可能仍由上述原因所致。这些试蚊之所以搜寻并停落到寄主体表，并非受气味物质的引诱，而是寄主散发的热量在体表周围空气中形成了一定的暖湿对流气流层，试蚊受这种气流的指引找到了寄主。有关这种假说的实验验证，Makiya 和 Iwao (1998)在研究了不同类型的引诱源，包括动物血液、人体气味、雄蚊振翅声、CO2 以及气味化合物对蚊虫的引诱效果后认为，存在于触角内的温湿感受器在

蚊虫准确定向寄主过程中发挥着重要作用。

作为良好的抑制剂,茴香醛可导致较长时间的嗅觉抑制,受试蚊虫与一定浓度茴香醛接触一定时间后,不再感知宿主的引诱性气味,这种抑制是永久性的。这在蚊虫防治上具现实意义,处于空间驱避带的蚊虫不仅在本区域,飞离驱避带后仍丧失了成功搜寻寄主的能力。

可以设想,通过特殊的释放装置,可将茴香醛释放在一定的目标保护区域,处于这一区域的蚊虫就会丧失搜寻寄主、吸食血液的本能,以茴香醛为代表的空间驱避剂无疑是实施蚊虫综合治理一项全新而理想的技术措施,但从实验室的基础理论研究发展到相关技术的实际应用仍有差距。今后的研究工作,将进一步深入研究这类气味化合物对蚊虫行为、生物学习性影响的内在机制,同时应尽早开展空间驱避剂野外实用化研究,从释放技术、使用浓度、单位剂量的有效作用区域,使用安全性评价等问题,都是今后的研究方向。可以预料,随着科学技术的发展,空间驱避剂将为人类提供一种安全的、科学有效的新途径,必将在未来的蚊虫综合治理中发挥重要作用。

参 考 文 献(**References**)

Dogan EB, Rossignol PA, 1999. An olfactometer for discriminating between attraction, inhibition, and repellency in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 36 (6): 788 – 793.

Fox AN, Pitts RJ, Robertson HM, Carlson JR, Zwiebel LJ, 2001. Candidate odorant receptors from the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* and evidence of down-regulation in response to blood feeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 14 693 – 14 697.

Luo LE, Liao CY, Zhou PA, 1989. Electrophysiological study of the antifeedant action of toosendanin to the armyworm larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 32(3): 257 – 262. [罗林儿,廖春燕,周培爱,1989. 川楝素对粘虫幼虫拒食作用的电生理学研究. 昆虫学报, 32(3): 257 – 262]

Kline DL, Bernier UR, Posey KH, Branard DR, 2003. Olfactometric evaluation of spatial repellents for *Aedes aegypti*. *J. Med. Entomol.*, 40(4): 463 – 467.

Makiya K, Iwao K, 1998. New types of mosquito traps using heat and carbon dioxide. *Parasitology International*, 47 (Suppl.1): 277.

Meijerink J, Braks MAH, Van Loon JJA, 2001. Olfactory receptors on the antennae of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* are sensitive to ammonia and other sweat-borne components. *Journal of Insect Physiology*, 47: 455 – 464.

Miller JD, 1982. Anaphylaxis associated with insect repellent. *N. Engl. J. Med.*, 307(21): 1 341 – 1 342.

Posey KH, Barnard DR, Schreck CE, 1998. Triple cage olfactometer for evaluating mosquito (Diptera: Culicidae) attraction responses. *J. Med. Entomol.*, 35(3): 330 – 334.

Shi YL, Wang WP, Liao CY, 1986. Effect of toosendanin on the sensory inputs of chemoreceptors of the armyworm larvae *Mythimna separata*. *Acta Entomologica Sinica*, 29(3): 233 – 238. [施玉梁,王文萍,廖春燕,1986. 川楝素抑制粘虫幼虫化学感受器诱发峰的观察. 昆虫学报, 29(3): 233 – 238]

Sinha C, Agrawal AK, Islam F, Seth, K, Chaturvedi RK, Shukla S, Seth PK, 2004. Mosquito repellent (pyrethoid-based) induced dysfunction of blood-brain barrier permeability in developing brain. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 22(1): 31 – 37.

(责任编辑: 袁德成)